

dement est faible et le coût élevé, et qui donne des animaux mosaïques. Pour éviter ces inconvénients, on peut utiliser les techniques de clonage. Les biologistes cherchent à introduire le gène thérapeutique dans des cellules fœtales de plusieurs jours et sélectionnent celles qui l'ont effectivement intégré. Le noyau contenant le gène est alors introduit dans un ovocyte dont on a retiré le noyau : cette cellule modifiée – un embryon – est réimplantée dans une mère porteuse. Lorsque l'on a obtenu un animal transgénique intéressant, on peut à nouveau utiliser les méthodes de clonage pour le multiplier plus rapidement qu'en attendant l'accomplissement du cycle normal de la reproduction.

Une autre solution serait l'utilisation de plantes. En effet, le code génétique étant universel, la frontière entre le monde animal et le monde végétal est ténue. En collaboration avec la Société *Limagrain-Biosanté*, Claude Poyart, Michael Marden et leurs collègues de l'Unité INSERM U299, à l'Hôpital Bicêtre, ont réussi à introduire le gène de l'hémoglobine dans un plant de tabac. La plante a synthétisé les deux sous-unités de la molécule d'hémoglobine (la globine alpha et la globine bêta), qui se sont associées au groupe hème de la plante (cette structure chimique est la même dans le règne végétal et dans le règne animal). La molécule obtenue semble fonctionnelle, puisqu'elle fixe l'oxygène (c'est le transporteur naturel de l'oxygène dans le sang) et le monoxyde de carbone (ce gaz a une forte affinité pour l'hémoglobine et, quand il est inhalé, il se fixe sur l'hémoglobine qui ne transporte plus l'oxygène, ce qui entraîne la mort par asphyxie).

Toutefois la quantité d'hémoglobine synthétisée est infime, et la protéine n'est exprimée que dans les graines et dans les racines. Les biologistes recherchent d'autres plantes qui pourraient assurer cette synthèse avec de meilleurs rendements. Des études sont notamment en cours sur le maïs (les méthodes de récupération des protéines extraites des graines de maïs sont bien maîtrisées). La production à grande échelle d'une enzyme digestive est en cours de développement.

Deux sociétés américaines font, d'ores et déjà, produire à du maïs et à du soja, des vaccins, des anticorps monoclonaux et diverses protéines thérapeutiques. Aucune de ces molécules



Victor Colombo et François Gerber

3. LES PROTÉINES ÉTRANGÈRES synthétisées par des bactéries sont souvent stockées sous forme d'inclusions insolubles. Ces amas de protéines apparaissent sous forme de masses sombres sur cette photographie prise au microscope électronique ; elles représentent parfois jusqu'à la moitié du poids de la bactérie productrice. On isole ces protéines après avoir fait éclater les bactéries. Ensuite, on les déroule en ajoutant des sels dont on diminue progressivement la concentration, de façon à ce que les protéines adoptent leur conformation naturelle, biologiquement active.

produites par les plantes n'est encore commercialisée.

Quelles protéines fabriquer par génie génétique ? Au cours d'une évolution qui a duré des millions d'années, les protéines les mieux adaptées à chaque tâche biochimique ont été sélectionnées. Inversement, les modifications qui nuisaient à l'organisme ont été éliminées. C'est pourquoi on n'a pas non plus à craindre d'imprévisibles effets secondaires – toxiques, cancérogènes ou tératogènes – lorsque l'on apporte à l'organisme une protéine qu'il ne synthétise pas ou qu'il produit en quantité insuffisante. Le génie génétique produit des protéines dont la séquence en acides aminés est identique à celle des protéines naturelles.

Recopier la nature

L'érythropoïétine est une de ces protéines identiques aux protéines naturelles que l'on a appris à produire. Chez l'adulte, l'érythropoïétine synthétisée par le rein déclenche la différenciation en globules rouges des précurseurs des cellules sanguines présents dans la moelle osseuse. Les personnes qui ont une maladie rénale chronique ne fabriquent généralement plus cette hormone en quantité suffisante. Les dialyses épuisent le sang, opération normalement

assurée par les reins, mais elles ne compensent pas le manque d'érythropoïétine. Sans l'hormone, les globules rouges se raréfient, de sorte que les tissus sont mal oxygénés et que les personnes atteintes sont très fatiguées. Des transfusions sanguines régulières les soulagent, mais elles risquent de transmettre des agents pathogènes et de surcharger l'organisme en fer, dommageable pour le foie et pour le cœur.

En revanche, chez les patients à qui l'on administre de l'érythropoïétine recombinée, le nombre de globules rouges augmente rapidement, et leur état général s'améliore. Près de 30 à 50 pour cent des quelque 300 000 dialysés dans le monde sont traités avec l'érythropoïétine recombinée. Cet exemple montre que l'on peut traiter avec des protéines recombinées non seulement des maladies héréditaires, telle l'hémophilie, mais aussi des maladies acquises.

À côté de ces protéines identiques aux protéines naturelles, les biologistes espèrent bientôt produire des protéines thérapeutiques sur mesure. Ils ont appris à assembler différents gènes ou parties de gènes ; la molécule codée est une protéine de fusion (ou protéine hybride). On utilise cette technique pour combiner des anticorps monoclonaux, ou leurs sites de reconnais-

sance, et une protéine. Ces chimères moléculaires devraient avoir une action anticancéreuse ciblée : un anticorps qui reconnaîtrait des cellules tumorales s'y ancrerait et permettrait à la substance active accolée (par exemple une toxine bactérienne) d'agir sur ces cellules cibles.

La fusion génétique autorise aussi la synthèse d'anticorps « bispécifiques » : si leurs deux bras reconnaissent deux cibles différentes, les molécules pourraient rapprocher d'une cellule tueuse du système immunitaire une cellule tumorale et provoquer la destruction de cette dernière.

Toutefois, on ne connaît encore aucune molécule capable de reconnaître spécifiquement des cellules tumorales, de sorte que ces médicaments testés n'ont pas une action aussi ciblée ni sûre qu'on le souhaiterait. En outre, les toxines bactériennes utilisées déclenchent généralement des réactions de défense, qui finissent par rendre les molécules chimères inefficaces.

Afin d'adapter une protéine aux exigences thérapeutiques, on peut aussi éliminer certaines parties du gène qui la code. Cette stratégie a été utilisée par la Société *Boehringer Mannheim* pour la production du tPA recombiné tronqué, utilisé contre l'infarctus du myocarde. On sait que les infarctus surviennent quand un caillot sanguin obstrue une artère coronaire : le caillot, constitué d'un réseau de fibrine et de plaquettes sanguines, doit être éliminé aussi vite que possible, car un tissu non irrigué se nécrose.

Pour dégager les vaisseaux, on utilisait des enzymes telles que la streptokinase bactérienne et, depuis une dizaine d'années, la protéine humaine tPA (de l'anglais *tissue Plasminogen Activator*, soit « activateur tissulaire du plasminogène ») ; les deux substances transforment le plasminogène en plasmine, une enzyme naturelle qui dégrade les fibres de fibrine.

Comme le foie élimine rapidement le tPA naturel du sang, on doit en administrer des doses élevées, afin qu'il ait le temps d'agir. Toutefois, une concentration élevée risque d'entraîner des hémorragies internes, des lésions cérébrales avec paralysies, voire la mort. Le tPA entier a également l'inconvénient de se fixer à la surface du caillot de fibrine, ce qui l'empêche de pénétrer dans le caillot pour le dissoudre.

Or, le tPA est constitué de plusieurs domaines, chacun assurant une fonc-

tion donnée. Par génie génétique, on sait sélectionner les domaines en éliminant du gène les séquences qui codent les propriétés gênantes. Afin d'améliorer la protéine thérapeutique, on ne fait produire par des bactéries que deux domaines génétiques, qui codent les deux derniers des cinq domaines que compte normalement la molécule. Comme chaque

domaine adopte sa conformation spatiale quasi indépendamment des autres, la molécule à deux domaines (le tPA recombiné tronqué) se replie normalement. Sa demi-vie dans l'organisme est trois fois supérieure à celle de la molécule naturelle, et sa fixation à la surface des caillots est moins forte, de sorte qu'elle y pénètre mieux et les dissout

Préparation d'une lignée cellulaire

L'érythropoïétine est une hormone que l'on fait produire par des cellules de mammifères transformées par génie génétique, car ces dernières synthétisent la protéine dans sa conformation biologiquement active et l'excrètent dans le milieu de culture. Quand on ignorait la séquence du gène qui code cette hormone, on a d'abord isolé la protéine de l'urine humaine, déterminé sa séquence en acides aminés et déduit la séquence probable de l'ADN correspondant (étape 1). On a ensuite synthétisé un court fragment de cet ADN marqué pour « pêcher » dans une banque de gènes un fragment d'ADN humain naturel contenant une séquence codant l'érythropoïétine (étape 2). La banque de gènes est consti-

